

Expresión de vimentina y su relación con las clases moleculares y el pronóstico en cáncer de mama

Drs. Aldo Reigosa¹, Carlos Pérez¹, Mariela Perozo¹, Eduardo Caleiras², Felipe Saldivia³, Ángel Fernández-Tortolero^{1,4}

RESUMEN

Introducción: La vimentina es un marcador mesenquimal y está relacionado con mayor invasión celular y peor pronóstico.

Objetivo: Evaluar la expresión inmunohistoquímica de vimentina en las clases moleculares del carcinoma de mama y su relación con algunas variables clinicopatológicas y su evolución.

Método: En 378 pacientes diagnosticadas de adenocarcinoma ductal infiltrante se analizó la expresión de la vimentina y se compararon los resultados obtenidos con las clases moleculares Luminal A, Luminal B, HER2 y triple negativo (TN), y con la supervivencia global (SG).

Resultados: La expresión positiva de vimentina se observó en 101 pacientes (26,7 %) y fue mayor en mujeres menores de 50 años (61,4 %). La SG promedio en las pacientes negativas al marcador fue de 49,37 meses y en las positivas de 35,53 meses. El 81,5 % de los tumores TN resultaron positivos a vimentina.

Conclusión: Se observó una relación estadísticamente significativa entre la expresión del marcador y la SG con respecto a todas las variables clinicopatológicas consideradas y la clase molecular. En las pacientes estudiadas se evidenció que la expresión de vimentina ayuda a identificar aquellas que tendrán una peor evolución.

Palabras clave: Vimentina. Clase molecular. Transición epitelial-mesenquimal.

SUMMARY

Introduction: Vimentin is a mesenchymal marker and is associated with increased cell invasion and poor prognosis.

Objective: To evaluate the immunohistochemical expression of vimentin in the molecular classes of breast carcinoma and its relation with some clinicopathological variables and evolution.

Method: In 378 patients diagnosed with infiltrating ductal adenocarcinoma of the breast the expression of vimentin was analyzed and the results were compared with the molecular classes Luminal A, Luminal B, HER2 and triple negative (TN), and with overall survival (OS).

Results: Positive expression of vimentin was observed in 101 patients (26.7 %) and was higher in women younger than 50 years (61.4 %). The mean OS in patients negative to the marker was 49.37 months, and 35.53 months in the positive ones. 81.5 % of TN tumors were positive for vimentin.

Conclusion: There was a statistically significant relationship between the expression of the marker and the OS with respect to all clinicopathological variables considered and the molecular class. In the patients studied it was evidenced that the expression of vimentin helps to identify those that will have a worse evolution.

Key words: Vimentin. Molecular class. Epithelial-mesenchymal transition.

¹Centro de Investigaciones Médicas y Biotecnológicas de la Universidad de Carabobo, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Carabobo, Valencia, Venezuela.

²Unidad de Diagnóstico Anatomopatológico. Hospital Metropolitano del Norte, Valencia, Venezuela.

³Instituto de Oncología "Dr. Miguel Pérez Carreño", Valencia, Venezuela.

⁴Departamento de Ciencias Fisiológicas, Escuela de Ciencias Biomédicas y Tecnológicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Carabobo, Valencia, Venezuela.

Autor de correspondencia: Ángel Fernández-Tortolero. Correo electrónico: angelbiouc@gmail.com.

Conflicto de interés: Los autores declaran la inexistencia de conflictos de interés.

INTRODUCCIÓN

El cáncer de mama representa un problema de salud pública en muchos países desarrollados y en vías de desarrollo. Considerando los dos sexos, es el segundo en frecuencia en el mundo después del cáncer de pulmón. En Venezuela constituye la primera causa de muerte por cáncer en la mujer (1,2).

Los carcinomas de la mama se han clasificado desde el punto de vista molecular en cuatro grupos mayores, que presentan un pronóstico y tratamiento muy diferentes. Es considerada una enfermedad heterogénea que presenta una variabilidad sustancial en su evolución dentro de cada categoría. Generalmente se acepta que los cursos clínicos variados de pacientes con tumores histológicamente parecidos son el resultado de diferencias moleculares (3).

Actualmente, desde el punto de vista inmunohistoquímico (IHQ) se reconocen las clases moleculares Luminal A, Luminal B, HER2 y triple-negativo (TN), y esta última clase a su vez se subdivide en tipo TN basal (TNB) y TN no basal (TNnB), de acuerdo a la expresión de marcadores característicos de células basales tales como la citoqueratina 5/6, el p63, el receptor del factor de crecimiento epidérmico 1 (EGFR) y otros (4-9).

En los últimos años se ha avanzado mucho en la comprensión del origen del carcinoma de mama. La teoría de las células madre cancerosas con potenciales evolutivos diferentes y un significativo número de diferentes alteraciones genéticas posibles, el papel de las células mioepiteliales y los mecanismos de la transformación epitelio-mesénquima (TEM), han aportado información muy valiosa en este sentido y han ayudado a entender mejor el carácter heterogéneo de la enfermedad (10-14).

La TEM es un proceso mediante el cual las células tumorales pierden sus marcadores epiteliales, adquiriendo la habilidad de separarse de las células vecinas y penetrar hacia los tejidos adyacentes, característica esencial de este

proceso (15,16). Estos mecanismos ocurren normalmente en el desarrollo embrionario, a su vez que son fundamentales para la progresión de muchos tumores de origen epitelial y representan un paso clave en la invasión y metástasis tumoral (17).

En la TEM, el citoesqueleto es reorganizado para conferir a la célula la habilidad de moverse, y un nuevo programa transcripcional es inducido para mantener un fenotipo mesenquimal, comprometiendo así la integridad mecánica y fisiológica de los tejidos (18,19).

Los filamentos intermedios (FI) forman parte del citoesqueleto y están constituidos por proteínas específicas para cada tipo celular, definidas durante el desarrollo embrionario, que son utilizadas como marcadores de diferenciación celular y tisular. Los FI de células normales de origen mesodérmico están constituidos por la proteína vimentina (20-23).

La vimentina es el filamento intermedio más omnipresente y está en todos los tipos primitivos de células, pero en la diferenciación está co-expresada o reemplazada por otros filamentos intermedios. En el epitelio de la mama normal, la vimentina es expresada por las células mioepiteliales, y en el cáncer de mama se expresa frecuentemente en carcinomas TN y su sobreexpresión se asocia con alto grado histológico, falta de expresión de receptores de hormonales, positividad del EGFR y de p53, mayor migración e invasión celular y, por tanto, se relaciona con un peor pronóstico (24,25).

La presente investigación tiene como objetivo determinar a través de la inmunohistoquímica (IHQ) el perfil de inmunoexpresión de la vimentina en el tumor primario, relacionando su expresión con las clases moleculares de carcinoma de mama y la supervivencia global de las pacientes.

MÉTODO

El presente estudio se realizó en pacientes diagnosticadas de adenocarcinoma ductal infiltrante de mama, en seguimiento en el Instituto de Oncología "Dr. Miguel Pérez Carreño" (IOMPC) de Valencia, Venezuela, entre los

años 2000 al 2011. Se analizó la expresión de la vimentina y se compararon los resultados con las clases moleculares definidas por IHQ, de acuerdo a la expresión de receptores de estrógeno (RE), receptores de progesterona (RP) y receptor del factor de crecimiento epidérmico humano 2 (HER2), y con algunas variables clínico-patológicas como la edad, el estadio clínico, el grado histológico y la supervivencia global.

Muestra. Con la aprobación del Comité de Ética y de la Comisión de Investigación del IOMPC, se conformó una muestra no aleatoria, de tipo intencional, con 378 pacientes, de acuerdo a los siguientes criterios de inclusión: a) sexo femenino; b) diagnóstico de adenocarcinoma ductal infiltrante de mama sin otra especificación, o mixto, con componente ductal predominante; c) disponibilidad de las preparaciones histológicas y bloques de parafina respectivos correspondientes al diagnóstico inicial, en el archivo del Servicio de Anatomía Patológica del Instituto; y d) suficiente tejido tumoral para realizar las matrices de tejido. Fueron excluidos del estudio los casos que no cumplieron con los criterios anteriormente señalados.

En base a los resultados obtenidos del análisis de RE, RP y HER2, se clasificaron los casos de cáncer como sigue: Luminal A: RE (+), RP (+); Luminal B: Positivo a RE o RP, independientemente del marcaje de HER2; HER2+: RE (-), RP (-), HER2 (+); TN: RE (-), RP (-), HER2 (-).

Definición de las variables clínico-patológicas. a) Edad al momento del diagnóstico, como variable cuantitativa. Además, se analizaron diferentes grupos etarios. b) Estadio clínico (EC). En la investigación se tomó el que figura en la historia clínica de cada mujer, establecido por el Servicio de Patología Mamaria del IOMPC. Se consideraron los cuatro EC mayores: I, II, III y IV. c) Grado histológico (GH). Se establecieron las tres categorías clásicas de Bloom-Richardson con las modificaciones de Elston y Ellis (26), correspondiendo el GH I a los tumores bien diferenciados y el GH III a los pobremente diferenciados. d) Supervivencia global (SG) en meses. Se tomó como punto de corte un seguimiento de 60 meses (5 años), con un mínimo de 36 meses. Se estableció el tiempo de supervivencia como aquel transcurrido desde

el diagnóstico hasta la fecha de la muerte, en caso de haber ocurrido antes de los 60 meses.

Construcción de la matriz de tejidos. Las muestras tisulares se fijaron en formol al 10 % y se incluyeron en parafina siguiendo los métodos convencionales. De los bloques de parafina se obtuvieron secciones histológicas de 4 µm de espesor que posteriormente se colorearon con hematoxilina-eosina. Se revisaron las preparaciones histológicas y se seleccionaron cuidadosamente las zonas con tumor, marcando esas mismas áreas en el bloque de parafina a fin de construir las matrices de tejido.

Las matrices de tejido y la IHQ se realizaron en el Centro de Investigaciones Médicas y Biotecnológicas de la Universidad de Carabobo, siguiendo el siguiente procedimiento: a) Se prepararon los bloques receptores o bloques únicamente de parafina. b) Se ubicó la serie de bloques donantes y se separaron en grupos. En cada tumor se seleccionaron dos zonas diferentes en el bloque de tejido (bloque donante). Se estableció el orden de estos bloques en una planilla que sirvió después para su lectura en el microscopio. c) Se realizó el troquelado de los bloques. Con la aguja hueca se extrajo un cilindro de parafina del bloque receptor dejando el espacio donde se introducen los cilindros obtenidos de los bloques donantes. Con otra aguja de menor calibre se obtuvo el cilindro con el material de la zona marcada del bloque donante que se introdujo en el bloque receptor. Los cilindros fueron colocados al mismo nivel que el bloque de parafina para facilitar el corte de todos ellos. d) Al culminar el proceso de troquelado de todos los bloques, se ubicó el nuevo bloque en la estufa a una temperatura de 45 °C durante 5 minutos para que la parafina de los cilindros y del bloque receptor se amoldaran y la superficie se alisara. e) Finalmente se procedió a realizar la técnica de IHQ.

Inmunohistoquímica. Se utilizó el método inmunohistoquímico de la estreptavidina biotina-peroxidasa, del sistema Immunon de DakoCytomation® según el protocolo indicado por la casa comercial.

Luego de la desparafinación e hidratación de las muestras, la recuperación antigénica se realizó en baño de agua (Isotemp Water Bath, modelo Isotemp 205, Fisher Scientific®), colocando las

preparaciones en vasos coplin con tampón citrato pH 6 por 40 minutos, precalentado a 95-99 °C.

Una vez terminada la recuperación antigénica se realizó la incubación con el anticuerpo primario. Las muestras se lavaron con tampón fosfato salino y se añadió el anticuerpo secundario conjugado. Por último, el revelado de la reacción se realizó con la aplicación del cromógeno diaminobencidina durante 5 minutos. Finalmente, se llevó a cabo la contratinción de las secciones tisulares con hematoxilina.

Cada cilindro de las matrices de tejidos fue analizado en dos ocasiones y los datos recogidos se anotaron en tablas diseñadas para tal fin. Se consideró como valor definitivo el promedio de las observaciones.

Los anticuerpos utilizados, la dilución, clon y fuente se muestran en el Cuadro 1.

Interpretación de los resultados del estudio inmunohistoquímico. La expresión de vimentina fue determinada de acuerdo al porcentaje de células con tinción observada en las células neoplásicas presentes en la muestra. Se consideró positivo cualquier tipo de inmunoexpresión citoplasmática, refiriendo el resultado como positivo o negativo a efectos del análisis estadístico y mediante porcentajes, de acuerdo a la siguiente escala: 1 %-10 %, 11 %-70 % y 71 %-100 %.

Análisis estadístico. El análisis de los datos recogidos se realizó mediante el paquete estadístico SPSS versión 19 (IBM *Statistical Package for Social Sciences*, Inc., Chicago, IL). La asociación entre las clases moleculares y el marcador inmunohistoquímico se analizó con la determinación de Chi cuadrado y el test exacto de Fisher. Por su parte, el estudio de supervivencia se realizó mediante el método de Kaplan-Meier y los valores se compararon con los tests de log-

rank y Breslow. Se consideraron estadísticamente significativas las diferencias que tenían valores de $P < 0,05$.

RESULTADOS

En los 378 casos estudiados la edad media de las pacientes fue de 51,75 años (rango de 27-93 años). La clase molecular más frecuente en este estudio fue la Luminal A con un total de 150 (39,7 %) casos, seguidos de los carcinomas TN con 112 (29,6 %) casos, Luminal B con 79 (20,9 %) casos y HER2 con 37 (9,8 %) casos (Cuadro 2). En el mismo cuadro se detalla la expresión de vimentina en relación con las características clínicopatológicas, clase molecular y supervivencia global, en donde 101/378 (26,7 %) pacientes presentaron positividad a vimentina. El promedio de edad para las pacientes negativas fue de 52,93 años, y para las positivas fue de 48,52 años ($p=0,001$). En cuanto a las clases moleculares del total de las pacientes positivas a la expresión del marcador, 73 (72,3 %) eran TN, 14 (13,9 %) Luminal A, 8 (7,9 %) Luminal B y 6 (5,9 %) HER2.

El grado histológico y la supervivencia global se asoció de forma significativa con la expresión positiva del marcador ($P < 0,001$).

La Figura 1 muestra ejemplos representativos de los patrones de expresión inmunohistoquímica de vimentina observados en este estudio. En las Figuras 2 a 5 se observan las curvas de supervivencia de Kaplan-Meier relacionando la expresión de vimentina y las clases moleculares, donde se evidencian diferencias significativas de acuerdo a la positividad del marcador en Luminal A ($P=0,001$) y TN ($P=0,040$), mientras que en Luminal B ($P=0,226$) y HER2 ($P=0,092$) no se

Cuadro 1. Dilución, clon y fuente de anticuerpos utilizados

Marcador	Dilución	Clon comercial	Marca del marcaje	Localización
RE	1/50	GF 11	Novocastra	Nuclear
RP	1/100	clon 636	Dako	Nuclear
HER2	Prediluido	Herceptest	Dako	Membrana
Vimentina	1/200	V9	Dako	Citoplasma

Cuadro 2. Expresión de vimentina en relación con las variables clinicopatológicas, clase molecular y supervivencia global

Variables		Total	Expresión de Vimentina		P
			Negativo	Positivo	
Casos		378 (100)	277 (73,3)	101 (26,7)	
Edad (años): media		51,75	52,93	48,52	0,001
Grupos etarios	≤40	62 (16,4)	32 (11,6)	30 (29,7)	0,001
	41-50	128 (33,9)	96 (34,7)	32 (31,7)	
	51-65	144 (38,1)	115 (41,5)	29 (28,7)	
	≥66	44 (11,6)	34 (12,3)	10 (9,9)	
Punto de corte	≤50	190 (50,3)	128 (46,2)	62 (61,4)	0,009
	≥51	188 (49,7)	149 (53,8)	39 (38,6)	
Estadio clínico	I	14 (3,7)	13 (4,7)	1 (1,0)	0,227
	II	137 (36,2)	103 (37,2)	34 (33,7)	
	III	208 (55,0)	146 (52,7)	62 (61,4)	
	IV	19 (5,0)	15 (5,4)	4 (4,0)	
Grado histológico	I	58 (15,3)	51 (18,4)	7 (6,9)	<0,001
	II	188 (49,7)	159 (57,4)	29 (28,7)	
	III	132 (34,9)	67 (24,2)	65 (64,4)	
Clase molecular	Luminal A	150 (39,7)	136 (49,1)	14 (13,9)	<0,001
	Luminal B	79 (20,9)	71 (25,6)	8 (7,9)	
	HER2	37 (9,8)	31 (11,2)	6 (5,9)	
	TN	112 (29,6)	39 (14,1)	73 (72,3)	
Supervivencia global (media de meses)		---	49,37	35,53	<0,001
Evento	Viva	177 (46,8)	154 (55,6)	23 (22,8)	<0,001
	Fallecida	201 (53,2)	123 (44,4)	78 (77,2)	

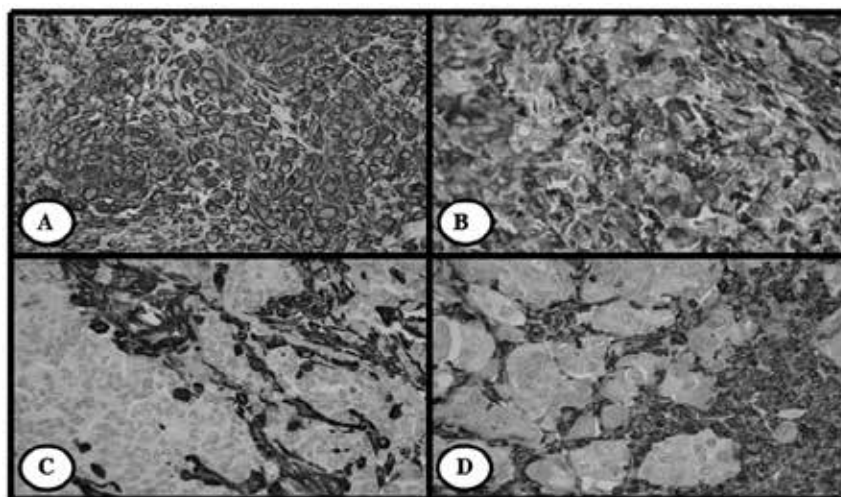


Figura 1. Expresión de vimentina en células tumorales. (A) 100 % de expresión. (B) 80 % de expresión. (C) 10 % de expresión (células aisladas). (D) Negativo (0 %). Aumento original 200X.

EXPRESIÓN DE VIMENTINA EN CÁNCER DE MAMA

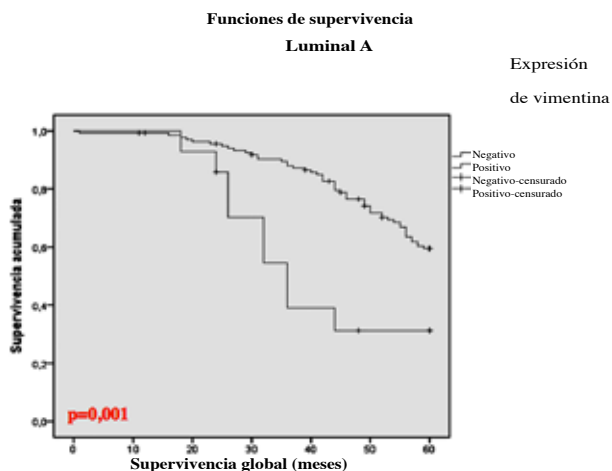


Figura 2. Relación entre la supervivencia global y clase Luminal A según la expresión del marcador vimentina.

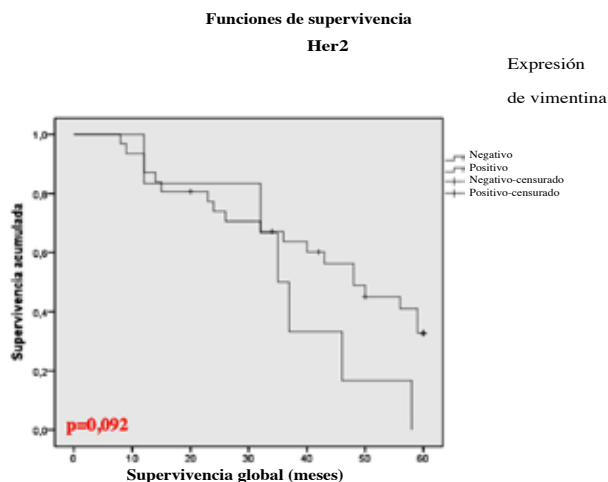


Figura 4. Relación entre la supervivencia global y clase HER2 según la expresión del marcador vimentina.

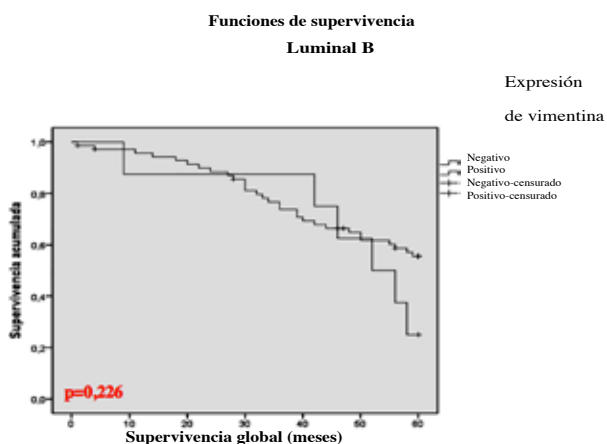


Figura 3. Relación entre la supervivencia global y clase Luminal B según la expresión del marcador vimentina.

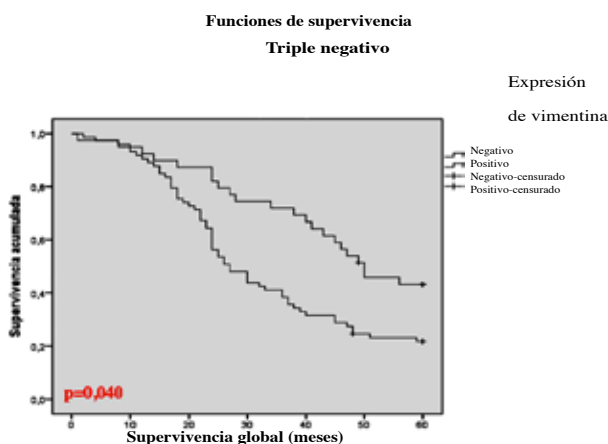


Figura 5. Relación entre la supervivencia global y clase TN según la expresión del marcador vimentina.

observó dicha asociación.

Por su parte, en el Cuadro 3 se muestra una relación estadísticamente significativa entre la expresión del marcador y la supervivencia global con respecto a todas las variables clínicopatológicas y la clase molecular ($P < 0,001$).

Finalmente, en el Cuadro 4 se muestra una escala de la expresión de vimentina de acuerdo al porcentaje de positividad de las células neoplásicas, donde se evidencia una asociación estadísticamente significativa con los grupos

etarios ($P = 0,001$), el grado histológico ($P < 0,001$), la clase molecular ($P < 0,001$) y la supervivencia global ($P < 0,001$). Del total de pacientes con expresión mayor a 71 % de positividad, 40 (61,5 %) eran menores de 50 años y 25 (38,5 %) mayores de 50 años ($P = 0,010$). La supervivencia media en las pacientes que expresaban entre 1 %-10 % de positividad a vimentina fue de 41,16 meses, mientras que con más del 71 % correspondió a 34,43 meses ($P < 0,001$).

Cuadro 3. Expresión de vimentina y supervivencia global en relación con las variables clinicopatológicas y clase molecular

Variables (media de meses)		Supervivencia global		P
		Expresión de Vimentina Negativo	Positivo	
Grupos etarios	≤ 40	48,0	32,6	<0,001
	41-50	49,2	34,5	
	51-65	49,8	41,2	
	≥66	49,3	30,6	
Punto de corte	≤50	48,9	33,6	<0,001
	≥51	49,7	38,5	
Estadio clínico	---	---	---	<0,001
Grado histológico	I	53,7	54,8	<0,001
	II	50,2	36,8	
	III	44,0	33,0	
Clase molecular	Luminal A	52,8	39,7	<0,001
	Luminal B	48,4	47,8	
	HER2	42,3	36,6	
	TN	44,5	33,2	

Celdas sin datos corresponden a estratos sin casos o con todos los casos censurados.

Cuadro 4. Expresión de vimentina según el porcentaje de positividad en relación con las variables clinicopatológicas, clase molecular y la supervivencia global

Variables	Negativo	Expresión de Vimentina n (%)			P
		1 %-10 %	11 %-70 %	71 %-100 %	
Total de casos	277 (73,3)	18 (4,8)	18 (4,8)	65 (17,2)	
Edad (años): media	52,93	47,89	51,72	47,82	0,005
Grupos etarios	≤40	7 (38,9)	5 (27,8)	18 (27,7)	0,001
	41-50	4 (22,2)	6 (33,3)	22 (33,8)	
	51-65	5 (27,8)	2 (11,1)	22 (33,8)	
	≥66	2 (11,1)	5 (27,8)	3 (4,6)	
Punto de corte	≤50	11 (61,1)	11 (61,1)	40 (61,5)	0,010
	≥51	7 (38,9)	7 (38,9)	25 (38,5)	
Estadio clínico	I	0 (0)	0 (0)	1 (1,5)	0,217
	II	7 (38,9)	7 (38,9)	20 (30,8)	
	III	9 (50,0)	11 (61,1)	42 (64,6)	
	IV	2 (11,1)	0 (0)	2 (3,1)	
Grado histológico	I	4 (22,2)	1 (5,6)	2 (3,1)	<0,001
	II	4 (22,2)	4 (22,2)	21 (32,3)	
	III	10 (55,6)	13 (72,2)	42 (64,6)	
Clase molecular	Luminal A	7 (38,9)	1 (5,6)	6 (9,2)	<0,001
	Luminal B	3 (16,7)	0 (0)	5 (7,7)	
	HER2	2 (11,1)	3 (16,7)	1 (1,5)	
	TN	6 (33,3)	14 (77,8)	53 (81,5)	
Supervivencia global (media de meses)	49,37	41,16	33,94	34,43	<0,001
Evento	Viva	6 (33,3)	4 (22,2)	13 (20,0)	<0,001
	Fallecida	12 (66,7)	14 (77,8)	52 (80,0)	

DISCUSIÓN

El cáncer de mama constituye un grupo heterogéneo de enfermedades con patrones de expresión genética diferentes, que permiten clasificarlo en subtipos moleculares con variabilidad pronóstica (27-31). Los subtipos moleculares más frecuentes en nuestro estudio fueron el Luminal A (39,7 %) y el TN (29,6 %), siendo esto último consistente con la presencia de un mayor porcentaje de tumores TN en mujeres latinoamericanas y afroamericanas, con respecto a las de origen caucásico (32-34). El 34,9 % de las pacientes fueron grado histológico III, y el 55 % estadio clínico III, pudiendo asociarse a la gran cantidad de casos TN, debido a la asociación de estos tumores con factores de mal pronóstico (35,36).

La vimentina se encuentra relacionada en la literatura con el fenotipo basal en el carcinoma de mama (37,38), pero también se considera un indicador de la TEM, hecho que se considera un paso que favorece las metástasis (39,40). Esta TEM ha sido difícil de documentar y como explicación se han señalado varios argumentos, a saber: 1) una TEM incompleta puede ser suficiente para que las células produzcan metástasis; 2) La TEM puede ocurrir solamente en un pequeño número de células en un tumor, que rápidamente desaparecerían al trasvasarse en los vasos linfáticos o sanguíneos; 3) Después de la colonización, las células tumorales revierten el proceso, ocurriendo la TEM. Un creciente número de evidencias sugieren que la TEM es responsable de la adquisición de resistencia terapéutica por parte de las células cancerosas, y en la generación de células con características de células madre y un alto potencial tumorigénico (41,42).

En nuestro estudio, la vimentina se expresó en un número importante de casos, el 26,7 % del total, evidenciándose un alto porcentaje con respecto a otros estudios (25,43,44). En la revisión de la literatura se encontraron controversias con respecto a los diferentes puntos de corte para la expresión inmunohistoquímica de la vimentina. Algunos autores consideran como positiva la presencia del 1 % (24,45,46) de expresión en las células tumorales, mientras que para otros es el 10 % (30,43); debido a esto buscamos definir una escala pronóstica determinante para

su expresión. Los puntos de corte representados en múltiples escalas, comparados con las variables clinicopatológicas, la clase molecular y la supervivencia global, demostraron que la expresión del marcador en células aisladas (<10 % de células positivas), ya era un factor determinante en cuanto al pronóstico.

La expresión de vimentina fue mayor en mujeres menores de 50 años (61,4 %), coincidiendo con varias investigaciones (21,44,46). En nuestro estudio se observó un alto porcentaje de positividad (71 %-100 %) en pacientes menores de 50 años, estadio clínico III y grado histológico III, todos ellos factores de peor pronóstico. Aunque se encontró en todas las clases, esta positividad estuvo principalmente relacionada con la clase TN, con expresión en el 72,3 % de los casos ($P < 0,001$). De la misma forma, esta positividad presentó asociación altamente significativa con la supervivencia global ($P < 0,001$). Debe destacarse también que la supervivencia global media fue de 35,53 meses, y el 77,2 % (78 casos) de las pacientes que expresaron positividad a vimentina fallecieron.

Al asociar la evolución y la positividad de vimentina, el porcentaje de casos fallecidos fue mayor en todas las variables clinicopatológicas y clases moleculares cuando era positivo el marcador (Figuras 2 al 5). En el caso de los tumores Luminal A y TN, al expresar positividad para vimentina, la supervivencia de las pacientes disminuyó más de 10 meses en comparación con las que fueron negativas, representando una asociación estadística importante (Figuras 2 y 5, respectivamente). La gran mayoría de las publicaciones sobre la expresión de vimentina refieren su relación con la clase TN, y con su importancia pronóstica, más no especifican su significado cuando se expresan en una clase molecular diferente a TN (24,44,45).

Sin embargo, la clase molecular TN es la que ha recibido mayor atención en la literatura, en parte por el mal pronóstico que tiene, así como por la ausencia de terapia específica, a diferencia de lo que ocurre con las otras clases moleculares. Recientemente ha quedado demostrado en la literatura publicada (4-9), que no todos los casos con el fenotipo TN son de tipo basal, existiendo al menos dos grandes subtipos: TN con expresión de marcadores basales (TNB) y TN con ausencia

de expresión de marcadores relacionados con el tipo basal (TNnB).

Para separar estos dos subtipos de TN se han utilizado una gran variedad de marcadores, entre ellos vimentina, actina, p63, C-Kit, CD10, p120, calponina, ALDH1, BRCA1 y BRCA2 (del inglés *breast cancer* 1 y 2) o cadherina P para su caracterización o para predecir la evolución en este grupo (38,47-49). Esto ha aumentado el interés en la realización de estudios detallados de la vimentina en este tipo de cáncer.

La vimentina es un marcador con utilidad, no solo para discriminar al subgrupo TNB, sino con relevancia pronóstica independiente. Sin embargo, algunas publicaciones describen que la vimentina no aporta información adicional en cuanto a la caracterización del fenotipo basal (45,50). Consideramos que la vimentina puede ser relevante y práctica en el futuro, tanto para este grupo como cuando se expresa en otras clases moleculares.

La vimentina se ha descrito como un marcador asociado a factores de mal pronóstico (21,22,24). De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente trabajo, podemos concluir que la expresión de vimentina fue un factor importante para predecir la evolución de los casos estudiados, en especial los Luminal A y TN, aun cuando la expresión sea de pocas células, por lo que se recomienda su uso como un marcador pronóstico.

AGRADECIMIENTOS

A todo el personal que labora en el Servicio de Anatomía Patológica y de Historias Médicas del IOMPC y a las Licenciadas Sailed Díaz, Lisbeth Silva y Mirlan Remanton, encargadas de la realización de las matrices de tejidos, cortes histológicos y realización de la técnica de IHQ, respectivamente.

REFERENCIAS

1. Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit R, Eser S, Mathers C, et al. Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC Cancer Base No. 11. GLOBOCAN 2012. International Agency for Research on Cancer 2013.
2. Ministerio del Poder Popular para la Salud. Anuario de Mortalidad 2011. [Documento en línea, consultado en febrero 2014]. Disponible en: <http://www.bvs.gov.ve/anuario/Anuario2011.pdf>.
3. Puzstai L, Mazouni C, Anderson K, Wu Y, Symmans WF. Molecular classification of breast cancer: Limitations and potential. *Oncologist*. 2006;11:868-877.
4. Anders CK, Carey LA. Biology, metastatic patterns, and treatment of patients with triple-negative breast cancer. *Clin Breast Cancer*. 2009;9(Suppl 2):S73-81.
5. Bhargava R, Striebel J, Beriwal S, Flickinger JC, Onisko A, Ahrendt G, et al. Prevalence, morphologic features and proliferation indices of breast carcinoma molecular classes using immunohistochemical surrogate markers. *Int J Clin Exp Pathol*. 2009;2:444-455.
6. Cheang MC, Chia SK, Voduc D, Gao D, Leung S, Snider J, et al. Ki67 index, HER2 status, and prognosis of patients with luminal B breast cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2009;101:736-750.
7. Loi S, Sotiriou C, Haibe-Kains B, Lallemand F, Conus NM, Piccart MJ, et al. Gene expression profiling identifies activated growth factor signaling in poor prognosis (Luminal-B) estrogen receptor positive breast cancer. *BMC Med Genomics*. 2009;2:37.
8. Choi YL, Oh E, Park S, Kim Y, Park YH, Song K, et al. Triple-negative, basal-like, and quintuple-negative breast cancers: Better prediction model for survival. *BMC Cancer*. 2010;10:507.
9. Sircoulomb F, Bekhouche I, Finetti P, Adélaïde J, Ben Hamida A, Bonansea J, et al. Genome profiling of ERBB2-amplified breast cancers. *BMC Cancer*. 2010;10:539.
10. Cariati M, Purushotham AD. Stem cells and breast cancer. *Histopathology*. 2008;52:99-107.
11. Charafe-Jauffret E, Ginestier C, Lovino F, Wicinski J, Cervera N, Finetti P, et al. Breast cancer cell lines contain functional cancer stem cells with metastatic capacity and a distinct molecular signature. *Cancer Res*. 2009;69:1302-1313.
12. Rosen JM, Jordan CT. The increasing complexity of the cancer stem cell paradigm. *Science*. 2009;324:1670-1673.
13. Pandey PR, Saidou J, Watabe K. Role of myoepithelial cells in breast tumor progression. *Front Biosci*. 2010;15:226-236.
14. Katz E, Dubois-Marshall S, Sims AH, Gautier P, Caldwell H, Meehan RR, et al. An in vitro model that recapitulates the epithelial to mesenchymal transition (EMT) in human breast cancer. *PLoS ONE* 2011; 6:e17083.
15. Radisky D. Epithelial-mesenchymal transition. *J Cell Sci*. 2005;118:4325-4326.
16. Kallergi G, Papadaki MA, Politaki E, Mavroudis D,

- Georgoulas V, Agelaki S. Epithelial to mesenchymal transition markers expressed in circulating tumour cells of early and metastatic breast cancer patients. *Breast Cancer Res.* 2011;13:R59.
17. Yang J, Weinberg RA. Epithelial-mesenchymal transition: At the crossroads of development and tumor metastasis. *Dev Cell.* 2008;14:818-829.
 18. Larue L, Bellacosa A. Epithelial-mesenchymal transition in development and cancer: Role of phosphatidylinositol 30 kinase/AKT pathways. *Oncogene.* 2005;24:7443-7454.
 19. Kalluri R, Weinberg RA. The basics of epithelial-mesenchymal transition. *J Clin Invest.* 2009;119:1420-1428.
 20. Evans RM. Vimentin: The conundrum of the intermediate filament gene family. *Bioessays.* 1998;20:79-86.
 21. Hemalatha A, Suresh TN, Harendra Kumar ML. Expression of vimentin in breast carcinoma, its correlation with Ki67 and other histopathological parameters. *Indian J Cancer.* 2013;50:189-194.
 22. Calaf G, Balajee AS, Montalvo-Villagra MT, Leon M, Navarrete D, Gonzalez R. Vimentin and Notch as biomarkers for breast cancer progression. *Oncology Letters.* 2014;7:721-727.
 23. Raymond WA, Leong AS. Vimentin: A new prognostic parameter in breast cancer? *J Pathol.* 1989;158:107-114.
 24. Rodríguez-Pinilla SM, Sarrió D, Honrado E, Moreno-Bueno G, Hardisson D, Calero F, et al. Vimentin and laminin expression is associated with basal-like phenotype in both sporadic and BRCA1-associated breast carcinomas. *J Clin Pathol.* 2007;60:1006-1012.
 25. Korsching E, Packeisen J, Liedtke C, Hungermann D, Wülfing P, van Diest PJ, et al. The origin of vimentin expression in invasive breast cancer: Epithelial-mesenchymal transition, myoepithelial histogenesis or histogenesis from progenitor cells with bilinear differentiation potential? *J Pathol.* 2005;206:451-457.
 26. Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer I. The value of histological grade in breast cancer: Experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology.* 1991;19:403-410.
 27. Jacquemier J, Ginestier C, Rougemont J, Bardou VJ, Charafe-Jauffret E, Geneix J, Adélaïde J, et al. Protein expression profiling identifies subclasses of breast cancer and predicts prognosis. *Cancer Res.* 2005;65:767-779.
 28. Conforti R, Boulet T, Tomasic G, Aranchon E, Arriagada R, Spielmann M, et al. Breast cancer molecular subclassification and estrogen receptor expression to predict efficacy of adjuvant anthracyclines-based chemotherapy: A biomarker study from two randomized trials. *Ann Oncol.* 2007;18:1477-1483.
 29. Blows FM, Driver KE, Schmidt MK, Broeks A, van Leeuwen FE, Wesseling J, et al. Subtyping of breast cancer by immunohistochemistry to investigate a relationship between subtype and short and long term survival: A collaborative analysis of data for 10,159 cases from 12 studies. *PLoS Med.* 2010;7:e1000279.
 30. Kittaneh M, Montero A, Glück S. Molecular Profiling for Breast Cancer: A Comprehensive Review. *Biomarkers Cancer.* 2013;5:61-70.
 31. Lips EH, Mulder L, de Ronde JJ, Mandjes IAM, Koolen BB, Wessels LFA. Breast cancer subtyping by immunohistochemistry and histological grade outperforms breast cancer intrinsic subtypes in predicting neoadjuvant chemotherapy response. *Breast Cancer Res Treat.* 2013;140:63-71.
 32. Zaharia M, Gómez H. Cáncer de mama triple negativo: una enfermedad de difícil diagnóstico y tratamiento. *Rev Peru Med Exp Salud Pública.* 2013;30:649-656.
 33. Saade MJ. Cáncer de mama triple negativo: características clínicas y moleculares. *Gac Méd Caracas.* 2011;119:213-218.
 34. Perou CM. Molecular stratification of triple-negative breast cancers. *Oncologist.* 2010;15:39-48.
 35. Jeong H, Ryu YJ, An J, Lee Y, Kim A. Epithelial-mesenchymal transition in breast cancer correlates with high histological grade and triple-negative phenotype. *Histopathology.* 2012;60:87-95.
 36. Malhotra G, Zhao X, Band H, Band V. Histological, molecular and functional subtypes of breast cancers. *Cancer Biol Ther.* 2010;10:955-960.
 37. Carvalho FM, Bacchi LM, Santos PP, Bacchi CE. Triple-negative breast carcinomas are a heterogeneous entity that differs between young and old patients. *Clinics (Sao Paulo)* 2010;65:1033-1036.
 38. Ingthorsson S, Briem E, Bergthorsson JT, Gudjonsson T. Epithelial plasticity during human breast morphogenesis and cancer progression. *J Mammary Gland Biol Neoplasia.* 2016;21:139-148.
 39. Shapiro IM, Cheng AW, Flytzanis NC, Balsamo M, Condeelis JS, Oktay MH, et al. An EMT-driven alternative splicing program occurs in human breast cancer and modulates cellular phenotype. *PLoS Genet* 2011; 7:e1002218.
 40. May CD, Sphyris N, Evans KW, Werden SJ, Guo W, Mani SA. Epithelial-mesenchymal transition and cancer stem cells: A dangerously dynamic duo in breast cancer progression. *Breast Cancer Res.* 2011;13:202.
 41. Creighton CJ, Li X, Landis M, Dixon JM, Neumeister VM, Sjolund A, Rimm DL, et al. Residual breast cancers after conventional therapy display

- mesenchymal as well as tumor-initiating features. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2009;106:13820-13825.
42. Polyak K, Weinberg RA. Transitions between epithelial and mesenchymal states: Acquisition of malignant and stem cell traits. *Nat Rev Cancer*. 2009;9:265-273.
 43. Yeung KT, Yang J. Epithelial-mesenchymal transition in tumor metastasis. *Mol Oncol*. 2017;11:28-39.
 44. Chen MH, Yip GW, Tse GM, Moriya T, Lui PC, Zin ML, et al. Expression of basal keratins and vimentin in breast cancers of young women correlates with adverse pathologic parameters. *Mod Pathol*. 2008;21:1183-1191.
 45. Tanaka K, Tokunaga E, Inoue Y, Yamashita N, Saeki H, Okano S, et al. Impact of Expression of Vimentin and Axl in Breast Cancer. *Clin Breast Cancer*. 2016;16:520-526.
 46. Yamashita N, Tokunaga E, Kitao H, Hisamatsu Y, Taketani K, Akiyoshi S, et al. Vimentin as a poor prognostic factor for triple-negative breast cancer. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2013;139:739-746.
 47. Prat A, Parker JS, Karginova O, Fan C, Livasy C, Herschkowitz JJ, et al. Phenotypic and molecular characterization of the claudin-low intrinsic subtype of breast cancer. *Breast Cancer Res*. 2010;12:R68.
 48. Reigosa A, Fernández A, Gutiérrez D, Caleiras E, Hardisson D, Espig H, et al. Expresión de p63 y citoqueratina 5/6 en los diferentes tipos moleculares del carcinoma de mama. *Rev Esp Patol*. 2010;43:79-85.
 49. Fernández A, Reigosa A, Caleiras E, Saldivia F, Hardisson D, Sanz F. Expresión de cadherinas E y P en los tipos moleculares de cáncer de mama. *Invest Clin*. 2015;56:155-168.
 50. Elswaf Z, Sinn HP, Rom J, Bermejo JL, Schneeweiss A, Aulmann S. Biological subtypes of triple-negative breast cancer are associated with distinct morphological changes and clinical behaviour. *Breast*. 2013;22:986-992.